

تأثیر تغذیه با ناپلیوس آرتمیای استرس‌دیده و ریشه کاسنی (*Cichorium intybus*) بر شاخص‌های رشد و زیست‌سنجی گویی (*Poecilia reticulata*)

- **هاله خلیل‌پور:** گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، کدپستی: 5714944514
 - **رامین مناف‌فر*:** گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، کدپستی: 5756151818
 - **وحید افشار هزارخانی:** گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه، دانشگاه ارومیه، کدپستی: 5714944514
 - **مهران حبیبی‌رضایی:** گروه سلولی و مولکولی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه تهران، صندوق‌پستی: 1417614418
 - **علی‌اکبر موسوی‌موحدی:** گروه بیوفیزیک، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، صندوق‌پستی: 1417614418
- تاریخ دریافت: شهریور 1395 تاریخ پذیرش: آذر 1395

چکیده

ناپلیوس آرتمیا نه تنها یک غذای مفید با ارزش غذایی بالا برای دوران لاروی اغلب آبزیان می‌باشد بلکه می‌تواند به عنوان حامل بسیاری از افزودنی‌ها نیز مطرح باشد. ایجاد استرس کنترل‌شده در ناپلیوس آرتمیا می‌تواند موجب تحریک و تولید پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) شود که تغذیه با آن باعث رشد و بقا بهتر موجود شود. در این تحقیق تأثیر تغذیه با ناپلیوس آرتمیای بدون استرس و استرس‌دیده و ریشه کاسنی به عنوان یک ماده پری‌بیوتیک در کنار غذای کنسانتره (تیمار شاهد) در مجموع 7 تیمار، بر شاخص‌های رشد و شاخص‌های زیست‌سنجی بچه ماهی گویی (*Poecilia reticulata*) بررسی شد. تعداد 51 ماهی در هر تیمار با اندازه تقریباً یکسان، به صورت کاملاً تصادفی در ظروف 3 لیتری تیمار بندی و به مدت 35 روز در 3 وعده به میزان 9% وزن بدن غذادهی شدند. در ابتدا و انتهای دوره غذادهی ماهی‌ها زیست‌سنجی شدند و نتایج آن‌ها با یکدیگر مقایسه گردید. نتایج تمامی شاخص‌های مورد مطالعه همچون افزایش وزن، افزایش طول، ضریب رشد ویژه، ضریب چاقی و درصد افزایش وزن نشان داد که تغذیه با ناپلیوس آرتمیای استرس‌دیده تأثیر بهتری در اغلب فاکتورها داشته است. شاخص‌های ذکر شده به جز ضریب چاقی در تیمارهای تغذیه شده با ناپلی افزایش بیش‌تری داشتند ($P < 0/05$). تیمارهای کاسنی و شاهد تغذیه‌شده با غذای کنسانتره نتوانستند رقابتی با دیگر تیمارهای تغذیه‌شده با غذای زنده داشته باشند ($P > 0/05$).

کلمات کلیدی: آرتمیا، پروتئین‌های شوک حرارتی، کاسنی، گویی، رشد، ناپلیوس

مقدمه

*آرپست الکترونیکی نویسنده مسئول: Raminmanaffar@gmail.com

طوری‌که نرخ رشد سالانه آن بیش‌تر از سایر صنایع بوده است (FAO، 2014). اهمیت اقتصادی ماهیان زینتی باعث افزایش چشمگیر تکثیر و پرورش آن‌ها شده است (Hoseinifar و همکاران، 2015). بنابراین شناخت و تقویت ویژگی‌های مختلف ماهیان آکواریومی از جمله رشد، بقا و پاسخ ایمنی ضروری به نظر می‌رسد (Firouzbakhsh و همکاران، 2011). یکی از مشکلات شایع آبی‌پروری بالا بودن میزان تلفات است که به دلایل متفاوتی از جمله گرسنگی، آسیب فیزیکی، استرس، آلودگی

آب و در نهایت بیماری رخ می‌دهد (Rottmann و همکاران، 1992). محدودیت‌های استفاده از روش‌های کنترل بیماری‌ها هم‌چون استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها باعث گسترش روش‌های زیستی از جمله پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها گردید (Austin و Irianto، 2002؛ Gomez-Gil و همکاران، 2000؛ Verschuere و همکاران، 2000؛ Gatesoupe، 1999). در سال‌های اخیر به منظور جلوگیری از اثرات نامطلوب آنتی‌بیوتیک‌ها در پرورش ماهی و همچنین جهت بهبود وضعیت سلامت و کارایی مصرف غذا، از افزودنی‌های غذایی زیادی از جمله پروبیوتیک‌ها استفاده می‌شود (Bagheri و همکاران،



که به‌صورت مؤثری هضم شود و نیاز ماهی برای رشد بهتر و حفظ سلامت را تأمین کند، استوار است (Giri و همکاران، 2002). ذرات غذا باید با توجه به اندازه کوچک دهان لارو ماهی انتخاب شود. انتخاب غذای بسیار ریز هم ممکن است به مشکل کمبود غذایی ناشی از نسبت بسیار زیاد سطح به حجم بی‌انجامد (Kim و همکاران، 1996). استفاده از غذای زنده در مقایسه با غذای آماده در *Oncorhynchus mykiss*، میزان رشد و وزن تر بیش‌تری را نشان داد (Akbari و همکاران، 2007). نخستین بار استفاده از موجودات زنده و به‌خصوص زئوپلانکتون‌ها برای تغذیه گونه‌هایی استفاده شد که نمی‌توانستند در مرحله لاروی از غذای آماده استفاده کنند (Kim و همکاران، 1996). در بین زئوپلانکتون‌ها میگوی آب‌شور یا آرتمیا و روتیفرها بیش‌تر برای تغذیه ماهی‌های آب شیرین استفاده می‌شوند (Bengtson و همکاران، 1991؛ Léger و همکاران، 1986).

نتایج بسیاری از تحقیقات نشان می‌دهد که آرتمیا منبع غذایی خوبی برای لاروهای گوشت‌خواران و مراحل اولیه بسیاری گونه‌ها می‌باشد که نیاز ماهی را به‌طور کامل تأمین می‌کند (Koueta و همکاران، 2002). آرتمیا سخت‌پوستی است که به‌دلیل اندازه کوچک در زمان تغریخ، تغذیه غیرانتخابی و کیفیت غذایی بالا می‌تواند به‌عنوان غذای آغازین مناسبی برای بسیاری از گونه‌های ماهیان در نظر گرفته شود (Sorgeloos و همکاران، 2001). از زمانی‌که صنعت آبی‌پروری و پرورش ماهی در اواخر دهه 1970 پیشرفت کرد، به‌تدریج تقاضا برای سیستم‌های آرتمیا از حدود چند تن در سال به 800 تن افزایش یافت که این میزان تنها 40% از نیاز غذایی مراحل اولیه پرورش آبزیان را شامل می‌شود (Lavens و Sorgeloos، 2000). استفاده از ناپلیوس آرتمیا، با ارزش غذایی 71-37% پروتئین، 30-12% لیپید، 11-23% کربوهیدرات و 21-4% خاکستر، مزایایی دارد از جمله این‌که ارزش غذایی بالایی دارد و نیز قابلیت کامل شدن با استفاده از غنی‌سازی را داراست (Léger و همکاران، 1986). برای استفاده از ناپلیوس در تغذیه ماهی بهتر است از ناپلیوس تازه هج شده استفاده کرد زیرا پس از گذشت 6 تا 8 ساعت که ناپلیوس وارد مرحله دوم لاروی (متاناپلیوس) می‌شود حدود 30-25% از انرژی خود را استفاده کرده و دارای مقدار کم‌تری اسیدآمینه است که قابلیت هضم ناپلیوس توسط ماهی و در نتیجه رشد ماهی را کاهش خواهد داد (Léger و همکاران، 1986). اسیدهای چرب موجود در آرتمیا از سری اسید چرب‌های (n-3) 18:3 و (n-3) 20:5 می‌باشد. لینولنیک اسید از سری (n-3) 18:3، از جمله اسیدچرب‌های ضروری ارگانیک‌های آب شیرین و ایکوزاپانتئونیک اسید از سری (n-3) 20:5 اسید چرب ضروری برای ارگانیک‌های دریایی است (Kanazawa و همکاران، 1979). همچنین گزارش شده است که در ناپلیوس آرتمیا مقادیر بالایی از HSP26 (Heat Shock Protein 26) وجود دارد که در صورت بیان می‌تواند از لارو در مقابل استرس‌های محیط محافظت کند. لازم به ذکر است یکی از راه‌های تقویت سیستم ایمنی زیستی، فعال نمودن مکانیسم درونی موجود می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که در صورت اعمال استرس، پروتئین‌های شوک حرارتی در بدن موجودات ترشح می‌شود که می‌تواند باعث بالا رفتن مقاومت به استرس‌های محیطی شود (جعفری و همکاران، 1393). ماهی گویی یکی از

به‌کارگیری پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها در جیره‌های غذایی می‌تواند از طریق کاهش غذای لازم برای رشد ماهیان کارایی تغذیه را افزایش دهد و کاهش هزینه‌های پرورش آبزیان را در پی داشته باشد. در واقع، غذا مهم‌ترین عامل محیطی است که ترکیب اسیدهای چرب و میزان چربی بافت بدن را در ماهی تحت تأثیر قرار می‌دهد (Millamena، 1996). پروبیوتیک‌ها مکمل‌های میکروبی زنده‌ای هستند که از طریق تغییر جمعیت میکروبی محیط یا میزبان و رقابت با باکتری‌های بیماری‌زا، اثرات سودمندی را روی میزبان می‌گذارند. دست‌کاری جمعیت میکروبی روده لاروهای آبزیان، با استفاده از باکتری‌های انتخابی برای بهینه‌سازی آن‌ها به منظور رشد و بازماندگی بهتر از جنبه‌های مهم استفاده از پروبیوتیک‌ها است (Ringø و Birkbeck، 1999). مشکلاتی در استفاده از پروبیوتیک‌ها وجود دارد از جمله این‌که پروبیوتیک‌ها فقط می‌توانند در روده بزرگ عمل کنند و برای رسیدن به روده باید از موانع فیزیکی و شیمیایی بسیاری در لوله گوارش عبور کنند (Pochart و همکاران، 1992) و تا رسیدن به روده باید فعال بمانند. برای حفظ بقاء و فعالیت، باکتری باید بتواند به اپیتلیوم روده متصل شود. علاوه بر آن، باکتری پروبیوتیک برای دستیابی به غذا و محل مناسب جهت کلون شدن بایستی با صدها باکتری دیگر فلور روده رقابت کند (Bouhnik و همکاران، 1992). جهت فائق آمدن بر محدودیت‌ها و مشکلات پروبیوتیک‌ها، استفاده از پری‌بیوتیک‌ها رایج گردید. پری‌بیوتیک‌ها که به‌عنوان مواد غذایی غیر قابل هضم شناخته می‌شوند با اثر بر تحریک رشد و فعالیت تعداد معدودی از باکتری‌های مفید و پروبیوتیک در دستگاه گوارش تأثیر خود را اعمال می‌کند. امروزه فروکتولیگوساکاریدها و اینولین از رایج‌ترین پری‌بیوتیک‌ها در اروپا، ژاپن و استرالیا بوده و تحقیقات بسیاری روی این ترکیبات متمرکز شده است (Franck، 2000). الیگوفروکتوزها فیبرهای غذایی محلول و قابل تخمیری می‌باشند که جزء خانواده فراکتان‌ها هستند (Roberfroid، 2005). علاوه بر این نشان داده شده است که اینولین جذب کلسیم و منیزیم را افزایش می‌دهد و بدین‌وسيله بر تولید گلوکز خون و کاهش میزان کلسترول و لیپیدهای سرم تأثیر می‌گذارد (Franck، 2000). اینولین یک کربوهیدرات گیاهی غیرقندی است که فیبر محلول دارد و از گیاهان مختلف همچون سیر، پیاز، تره‌فرنگی، گل‌کوکب و کاسنی به‌دست می‌آید (Roberfroid، 1993). اما معمولاً برای تولید اینولین، از گیاه کاسنی (*Cichorium intybus*) استفاده می‌شود. اگرچه اینولین یک فیبر طبیعی برای ماهیان محسوب نمی‌شود، ولی به‌واسطه دارا بودن خواص پری‌بیوتیکی در تحریک باکتری‌های مفید روده و توقف رشد باکتری‌های مضر، استفاده از آن در آبی‌پروری ایده جالب‌توجهی است (Ringø و همکاران، 2006). تحقیقات پیشین انجام شده در مورد تأثیر اینولین نشان‌دهنده بهبود عملکرد تولید، رشد و بقای ماهیان از قبیل بچه ماهی کلمه (*Rutilus rutilus caspicus*) (سروانی و همکاران، 1389)، کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Akrami و همکاران، 2012)، بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) (Mira، 2011)، تیلپیا (*Oreochromis niloticus*) (Ibrahim و همکاران، 2010) می‌باشد. برای بسیاری از گونه‌های ماهیان دوره لاروی مهم‌ترین و حساس‌ترین دوره زندگی محسوب می‌شود. موفقیت در پرورش لارو ماهی به‌طور عمده‌ای بر رژیم غذایی مناسبی

غذای تر نسبت به غذای خشک جهت جلوگیری از تغذیه یک تیمار با غذای اضافی مورد استفاده قرار گرفت. کیفیت آب طی این دوره در دمای 23 ± 1 درجه سانتیگراد، pH در محدوده 7.0 ± 5.5 و دوره نوری 12 ساعت نور و 12 ساعت تاریکی تنظیم شد. در پایان دوره 35 روزه، زیست‌سنجی 12 ماهی از هر تیمار (3 ماهی از هر تکرار) پس از بی‌هوشی توسط پودر گل میخک انجام گرفت. جهت بررسی شاخص‌های رشد از فرمول‌های زیر استفاده گردید:

افزایش طول (Wang و همکاران، 2003):

(طول کل: TL؛ طول نهایی: L_f ؛ طول اولیه: L_i)
 $TL = (L_f - L_i) \times 100 / t$ (سانتی‌متر)

افزایش وزن (Huang و همکاران، 2008):

(افزایش W؛ وزن نهایی: BWF؛ وزن اولیه: B_{wi})
 $WG = (BWF - B_{wi}) \times 100 / t$ (گرم)

ضریب رشد ویژه (Huang و همکاران، 2008):
 $SGR = \ln(W_f) - \ln(W_i) \times 100 / t$ (دوره رشد t؛ وزن نهایی: W_f ؛ وزن اولیه: W_i)
 بر حسب روز:

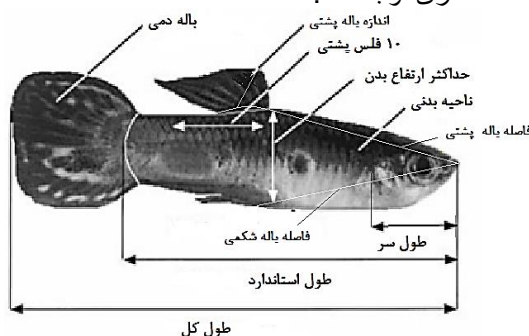
ضریب چاقی (Grant و همکاران، 2008):

(طول ماهی: L ؛ وزن ماهی: W)
 $CF = W(g) / L^3$ (سانتی‌متر)

درصد افزایش وزن (Hung و همکاران، 1989):

(متوسط وزن B_{wi} ؛ متوسط وزن نهایی: BWF)
 $BWI\% = (BWF - B_{wi}) / B_{wi} \times 100$ (اولیه):

علاوه بر شاخص‌های رشد تعدادی از فاکتورهای زیست-سنجی ماهی‌ها هم طبق قسمت‌های مشخص شده در شکل 1 توسط کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد. میانگین زیست‌سنجی در ابتدا و انتهای دوره با یکدیگر مقایسه شد. به‌منظور بررسی و تحلیل بهتر تعدادی از شاخص‌های زیست‌سنجی به‌صورت نسبی نسبت به طول یا وزن کلی محاسبه و نتایج در جدول ارائه شده است. با توجه به این‌که در این سن ماهیان بالغ نیستند لذا انتخاب نمونه برای زیست‌سنجی به‌صورت کاملاً تصادفی صورت گرفته و به صفات ظاهری توجه نشد.



شکل 1: شاخص‌های اندازه‌گیری شده در ماهی گویی: طول استاندارد، طول کل، فاصله باله شکمی، طول سر، حداکثر ارتفاع بدن، فاصله اولین باله پستی، طول اولین باله پستی (Hajjei و همکاران، 2011)

آنالیز آماری: داده‌های حاصل از این آزمایش در مورد رشد ماهی‌ها و مقایسه تیمارها با ابتدای دوره و نیز تیمار شاهد با روش آماری One Way ANOVA و آزمون Tukey با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 21 مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

ماهیان ساکن آب شیرین و از خانواده Poeciliidae است که به‌دلیل سهولت در نگهداری و باروری و نیز داشتن رنگ‌های زیبا و براق جزو محبوب‌ترین ماهیان زینتی در سراسر جهان (Magurran، 2005) و یکی از گزینه‌های مناسب جهت انجام کارهای تحقیقاتی به‌شمار می‌رود. هدف از تحقیق حاضر اپتیم‌سازی روش استفاده از ناپلیوس تازه هچ شده آرتمیا برای تقویت رشد در ماهیان آکواریومی می‌باشد، زیرا پیش‌بینی می‌شود بتوان با تحریک تولید پروتئین‌های شوک حرارتی در ناپلیوس آرتمیا و تغذیه ماهیان گویی با این غذا ماهیانی با سرعت رشد بهتر تولید نمود.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در زمستان 1394 در پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه انجام گرفت. تیمارهای مورد مطالعه در این تحقیق عبارت بودند از: تیمار (1) تغذیه‌شده با ناپلیوس بدون استرس، تیمار (2) ناپلیوس استرس‌دیده، تیمار (3) 50% ناپلیوس بدون استرس + 50% غذای کنسانتره، تیمار (4) 50% ناپلیوس استرس‌دیده + 50% غذای کنسانتره، تیمار (5) کاسنی 5%، تیمار (6) کاسنی 1% و تیمار (7) غذای کنسانتره. لارو ماهیان موردنیاز جهت این مطالعه نیز طی ماه‌های قبل توسط همین گروه تحقیقاتی از حدود 100 جفت مولد با کمترین اختلافات درون جمعیتی (مورفولوژیک) تکثیر یافته و در شرایط استاندارد پرورش داده شدند. ماهی‌ها قبل از شروع دوره غذایی مدت 10 روز با غذای کنسانتره تیمار شاهد غذایی شدند و به شرایط آزمایشی سازگار شدند. سیستم‌های *Artemia urmiana* با خلوص تأیید شده و درصد هچ بالای 75% (Manaffar، 2012) از سیستم بانک پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه تهیه شده و جمعیتی که بهترین و بالاترین سطح HSP26 تولید شده را در شوری 280 گرم بر لیتر دارا بودند انتخاب شد. به‌منظور تأیید صحت وجود این پروتئین برای اولین بار در دنیا توالی ژن HSP26 این آرتمیا در بانک ژنی NCBI ثبت گردید (خلیل‌پور، 1395). تحریک تولید پروتئین شوک حرارتی HSP26 در شوری و دمای بالا (نزدیک آستانه تحمل لاروها) صورت پذیرفته و ارزیابی تولید این پروتئین‌ها به‌روش RT-PCR صورت گرفت. سپس سیستم موردنظر در شرایط استاندارد تغذیه (دمای 28 درجه سانتیگراد و شوری 30 گرم بر لیتر) در بطری‌های 1 لیتری مخروطی شکل، هچ و بلافاصله در دمای 80- درجه سانتیگراد جهت تغذیه ماهی‌های تیمار 1، 2، 3 و 4 ذخیره شدند. ناپلیوس‌های مورد استفاده در تغذیه تیمارهای 2 و 4 تحت استرس شوری 280 گرم بر لیتر (خلیل‌پور، 1395) قرار گرفتند. جهت آماده کردن غذای تیمارهای 5 و 6، ریشه کاسنی که بیش‌ترین مقدار اینولین را داراست، از عطاری معتبر تهیه و پودر گردید. 5% و 1% پودر کاسنی با 25 میلی‌گرم ژلاتین در 50 سی‌سی آب مخلوط و بر روی 50 گرم غذای کنسانتره اسپری شد. جهت حذف اثر ژلاتین همان میزان ژلاتین در آب حل شده و به تنهایی بر روی غذای کنسانتره شاهد نیز افزوده شد. تعداد 17 ماهی جهت مقایسه با ماهی‌ها در پایان دوره، زیست‌سنجی شدند. برای این آزمایش 51 عدد ماهی گویی برای هر تیمار (حاوی 4 تکرار 17 تایی) به ظروف 3 لیتری منتقل و به‌مدت 35 روز با غذاهای مخصوص به مقدار 9% وزن بدن ماهی‌ها و در 3 وعده تغذیه شدند. در استفاده از ناپلیوس آرتمیا ضریب تبدیل 4:1



شاخص های رشد بررسی شده نشان داد در فاکتورهای افزایش وزن، افزایش طول، ضریب رشد ویژه و درصد افزایش وزن اختلاف معنی داری مابین 4 تیمار اول تغذیه شده با ناپلیوس با بقیه تیمارها خصوصاً تیمار شاهد وجود دارد ($p < 0/05$). این اختلاف خصوصاً در تیمارهایی که با ناپلیوس استرس دیده تغذیه شده بودند بیش تر بوده و بعضاً معنی دار نیز می باشد. نتایج این بخش از تحقیق نشان داد که استفاده از کاسنی در فاکتورهای وزن گیری و افزایش طول ماهی مؤثر نبوده است ($p > 0/05$). بهترین افزایش وزن در تیمار 2 (تغذیه با ناپلیوس استرس دیده) حاصل شده است. که از نظر افزایش طول و ضریب رشد ویژه نیز این ماده غذایی مؤثر بوده است (با وجود عدم اختلاف معنی دار). در رتبه دوم تیمار ترکیبی 4 (کنسانتره+ناپلی استرس دیده) قرار دارد. نکته قابل توجه این که در فاکتور افزایش طول تغذیه با ناپلی استرس دیده موجب تولید ماهیان همگنی با کمترین انحراف معیار شده است. برترین ترکیب غذایی برای القاء بالاترین ضریب چاقی تیمار 4 (50% ناپلیوس استرس دیده+50% غذای کنسانتره) ثبت شد.

جدول 1: میانگین $\pm$ انحراف معیار شاخص های رشد در ماهی گویی در تیمارهای مختلف (طول سانتی متر و وزن گرم)

تیمار	افزایش وزن	افزایش طول	ضریب رشد ویژه	ضریب چاقی	درصد افزایش وزن
1	0/159 $\pm$ 0/030 ^a	1/059 $\pm$ 0/127 ^a	3/308 $\pm$ 0/462 ^a	1/009 $\pm$ 0/019 ^{ab}	199/580 $\pm$ 38/615 ^a
2	0/220 $\pm$ 0/017 ^a	1/250 $\pm$ 0/040 ^a	3/770 $\pm$ 0/168 ^a	1/044 $\pm$ 0/023 ^{ab}	275 $\pm$ 21/794 ^a
3	0/181 $\pm$ 0/004 ^a	1/116 $\pm$ 0/055 ^a	3/382 $\pm$ 0/053 ^a	1/043 $\pm$ 0/057 ^{ab}	227/080 $\pm$ 6/166 ^a
4	0/219 $\pm$ 0/037 ^a	1/218 $\pm$ 0/137 ^a	3/748 $\pm$ 0/376 ^a	1/069 $\pm$ 0/013 ^a	273/750 $\pm$ 47/483 ^a
5	0/077 $\pm$ 0/020 ^b	0/727 $\pm$ 0/070 ^b	1/907 $\pm$ 0/371 ^b	0/954 $\pm$ 0/053 ^b	96/250 $\pm$ 25/093 ^b
6	0/056 $\pm$ 0/010 ^b	0/595 $\pm$ 0/080 ^b	1/521 $\pm$ 0/226 ^b	0/978 $\pm$ 0/021 ^{ab}	70/833 $\pm$ 13/365 ^b
7	0/071 $\pm$ 0/024 ^b	0/649 $\pm$ 0/088 ^b	1/788 $\pm$ 0/441 ^b	1/005 $\pm$ 0/049 ^{ab}	88/750 $\pm$ 30/336 ^b

* حروف متفاوت (به صورت عمودی) نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ($p < 0/05$) می باشد. تیمارها به ترتیب: (1) تغذیه شده با ناپلیوس بدون استرس؛ تیمار (2) ناپلیوس استرس دیده؛ تیمار (3) 50% ناپلیوس بدون استرس+50% غذای کنسانتره؛ تیمار (4) 50% ناپلیوس استرس دیده+50% غذای کنسانتره؛ تیمار (5) کاسنی 0/5%؛ تیمار (6) کاسنی 1%؛ تیمار (7) غذای کنسانتره.

جدول 2: میانگین $\pm$ انحراف معیار شاخص های زیست سنجی ماهیان گویی و مقایسه آن ها بین تیمارهای مختلف (میلی متر)

شاخص	وزن	طول	وزن/طول	فاصله باله	فاصله باله شکمی	طول سر	طول سر/طول	حد اکثر ارتفاع بدن	حد اکثر ارتفاع بدن/طول	فاصله باله	فاصله باله شکمی	طول باله	طول باله شکمی	طول استاندارد	طول استاندارد/طول
1	2/3 $\pm$ 0/3 ^{ab}	2/8 $\pm$ 1/6 ^{ab}	0/08 $\pm$ 0/005 ^{ab}	1/23 $\pm$ 1/62 ^{ab}	0/47 $\pm$ 0/04 ^{ab}	5/05 $\pm$ 0/39 ^{ab}	0/17 $\pm$ 0/006 ^{ab}	5/67 $\pm$ 0/37 ^{ab}	0/19 $\pm$ 0/008 ^{ab}	1/47 $\pm$ 0/96 ^{ab}	0/43 $\pm$ 0/01 ^{ab}	1/87 $\pm$ 0/18 ^{ab}	0/6 $\pm$ 0/006 ^{ab}	22/04 $\pm$ 1/66 ^{ab}	0/8 $\pm$ 0/01 ^{ab}
2	3/0 $\pm$ 0/5 ^a	3/62 $\pm$ 1/77 ^a	0/09 $\pm$ 0/001 ^a	1/366 $\pm$ 1/50 ^a	0/44 $\pm$ 0/03 ^{ab}	5/14 $\pm$ 0/48 ^a	0/16 $\pm$ 0/009 ^a	6/3 $\pm$ 0/48 ^a	0/20 $\pm$ 0/009 ^a	1/347 $\pm$ 1/11 ^a	0/43 $\pm$ 0/02 ^a	1/95 $\pm$ 0/22 ^{ab}	0/6 $\pm$ 0/004 ^{ab}	24/41 $\pm$ 1/86 ^a	0/79 $\pm$ 0/02 ^a
3	2/6 $\pm$ 0/5 ^{ab}	2/91 $\pm$ 1/65 ^a	0/08 $\pm$ 0/001 ^a	1/265 $\pm$ 1/87 ^a	0/42 $\pm$ 0/04 ^{ab}	5/07 $\pm$ 0/46 ^a	0/17 $\pm$ 0/01 ^a	6/09 $\pm$ 0/54 ^a	0/20 $\pm$ 0/01 ^a	1/256 $\pm$ 1/33 ^a	0/42 $\pm$ 0/02 ^a	1/74 $\pm$ 0/15 ^{bc}	0/5 $\pm$ 0/004 ^{ab}	22/27 $\pm$ 2/19 ^a	0/79 $\pm$ 0/02 ^a
4	2/9 $\pm$ 0/7 ^a	3/30 $\pm$ 1/77 ^a	0/09 $\pm$ 0/001 ^a	1/232 $\pm$ 2/18 ^a	0/43 $\pm$ 0/05 ^{ab}	5/88 $\pm$ 0/6 ^a	0/17 $\pm$ 0/01 ^a	6/35 $\pm$ 0/58 ^a	0/20 $\pm$ 0/01 ^a	1/321 $\pm$ 1/55 ^a	0/43 $\pm$ 0/03 ^a	2/05 $\pm$ 0/17 ^a	0/6 $\pm$ 0/003 ^a	24/32 $\pm$ 2/15 ^a	0/8 $\pm$ 0/02 ^a
5	1/5 $\pm$ 0/3 ^c	2/539 $\pm$ 1/65 ^b	0/06 $\pm$ 0/001 ^{cd}	1/371 $\pm$ 1/3 ^b	0/40 $\pm$ 0/03 ^b	6/43 $\pm$ 0/36 ^b	0/17 $\pm$ 0/01 ^a	6/85 $\pm$ 0/57 ^b	0/19 $\pm$ 0/01 ^b	1/86 $\pm$ 0/78 ^b	0/42 $\pm$ 0/02 ^a	1/49 $\pm$ 0/14 ^d	0/5 $\pm$ 0/004 ^{ab}	20/29 $\pm$ 1/29 ^b	0/79 $\pm$ 0/02 ^a
6	1/3 $\pm$ 0/4 ^c	2/61 $\pm$ 1/29 ^b	0/05 $\pm$ 0/001 ^d	1/48 $\pm$ 1/28 ^b	0/43 $\pm$ 0/02 ^{ab}	6/35 $\pm$ 0/31 ^b	0/18 $\pm$ 0/01 ^a	6/71 $\pm$ 0/71 ^b	0/19 $\pm$ 0/01 ^{ab}	1/32 $\pm$ 1/15 ^b	0/42 $\pm$ 0/01 ^a	1/42 $\pm$ 0/25 ^d	0/5 $\pm$ 0/008 ^{ab}	19 $\pm$ 2/06 ^b	0/78 $\pm$ 0/01 ^a
7	1/5 $\pm$ 0/5 ^c	2/61 $\pm$ 1/28 ^b	0/05 $\pm$ 0/001 ^{cd}	1/22 $\pm$ 1/34 ^b	0/43 $\pm$ 0/03 ^{ab}	6/42 $\pm$ 0/54 ^b	0/17 $\pm$ 0/01 ^a	6/42 $\pm$ 0/53 ^b	0/19 $\pm$ 0/01 ^{ab}	1/65 $\pm$ 1/37 ^b	0/43 $\pm$ 0/01 ^a	1/50 $\pm$ 0/21 ^{cd}	0/6 $\pm$ 0/006 ^{ab}	19/46 $\pm$ 2/22 ^b	0/79 $\pm$ 0/01 ^a

• حروف متفاوت (به صورت عمودی) نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ($p < 0/05$) می باشد.

بحث

غذا می شود (Kedia و همکاران، 2007). بر همین اساس مطالعات بسیاری در زمینه تأثیر مکمل های غذایی و پروبیوتیک ها و پری-بیوتیک ها در آبزیان صورت گرفته است. در برخی از این مطالعات عنوان شده که استفاده از پروبیوتیک و پری بیوتیک

محققان دریافته اند که باکتری های موجود در دستگاه گوارش، آنزیم های گوارشی تولید می کنند که باعث هضم بهتر



باعث افزایش سیستم ایمنی، مقاومت بهتر در برابر پاتوژن‌ها و نیز رشد بهتر موجودات از جمله کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) (Akrami و همکاران، 2012) می‌گردد (Yousefian و Sheikhholeslami Amiri، 2009). این محققان همچنین اظهار داشتند که ماهی تمایل به خوردن غذای غنی‌شده با پروبیوتیک را دارد که این منجر به افزایش رشد ماهی می‌گردد. Mira (2011) از مقادیر 0، 0/5، 1 و 1/5 اینولین به‌عنوان یک ماده پری-بیوتیک جهت

تغذیه بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kutum*) استفاده کرد و نتیجه گرفت که اینولین 0/5 در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر بسیار زیادی در رشد و کارایی غذای ماهی‌ها داشته است. Mahious و Ollevier (2005) نیز دریافتند که اینولین و اولیگوفروکتوز رشد ماهی‌های خاویار سبیری (*Acipenser baerii*) و گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) را بهبود می‌بخشد. نتایج تحقیق حاضر همچون برخی دیگر از تحقیقات که نشان می‌دهند، اینولین به‌تنهایی تأثیری بر رشد آبزیان ندارد، نشان داد که تیمارهای تغذیه‌شده با کاسنی 0/5% و 1% در مقایسه با تیمار شاهد تفاوتی نشان نداد. در تحقیقی دیگر نیز میزان رشد و بازماندگی بچه ماهی سفید تغذیه‌شده با اینولین در مقایسه با مانان و ترکیب مانان و اینولین کمتر بوده است (اکرمی و همکاران، 1392). درخصوص تأثیر کم اینولین بر آبزیان پرورشی Olsen و همکاران (2001) با اضافه کردن اینولین به غذای ماهی چارقطبی (*Salvelinus alpinus*) دریافتند که استفاده از اینولین به‌علت تجزیه و تخمیر نشدن آن باعث تجمع کربوهیدرات‌ها و اثر زیان‌بار بر سلول‌های آنتروسیت روده می‌شود که شاید دلیلی بر تأثیر کم اینولین بر رشد آبزیان باشد. در آزمایش حاضر، استفاده از کاسنی به‌عنوان منبع اینولین نیز می‌تواند مزید بر علت باشد زیرا ماهی‌ها در ابتدای دوره غذادهی رغبتی به خوردن غذا نشان نمی‌دادند و تا پایان دوره نیز کمترین مقدار غذا را در مقایسه با دیگر تیمارها استفاده کردند. البته جهت حل این مشکل از شیرین‌کننده‌های طبیعی استفاده شد ولی می‌توان از دیگر اولیگوساکاریدها که به‌دلیل ساختار شیمیایی و درجه پلیمریزاسیون منوساکاریدهای موجود در آن، طعم شیرینی را دارا هستند (Crittenden، 1999؛ Voragen، 1998) و سبب طعم‌دهی مطلوب به غذا می‌شود (Crittenden، 1999) استفاده کرد.

در زمینه استفاده از آرتمیا و ناپلیوس آرتمیا در تغذیه ماهی‌ها مطالعات گسترده‌ای انجام شده است. به‌عنوان مثال Roozbehfar و همکاران (2012) گزارش کردند که ماهی‌های کپور تغذیه‌شده با ناپلیوس آرتمیا اورمیان و ناپلیوس آرتمیا پارتنورنتیکا، بالاترین میزان رشد و تغذیه را در مقایسه با دیگر تیمارها نشان دادند. علاوه بر آن Roozbehfar و همکاران (2013) در تحقیقی دیگر به این نتیجه رسیدند که استفاده از ناپلیوس آرتمیا در تغذیه لارو گربه‌ماهی آفریقایی (*Clarias gariepinus*) میزان بقا را تا حد زیادی افزایش می‌دهد. از آن‌جایی‌که آرتمیا یکی از بهترین غذاهای زنده ماهی‌ها محسوب می‌شود و تحقیقات نشان‌دهنده تأثیر مثبت آرتمیا بر رشد ماهی‌ها می‌باشند در این آزمایش از ناپلیوس آرتمیا جهت بهبود رشد ماهی‌ها استفاده شد. با این‌که میزان رشد در تیمارهای تغذیه‌شده

با ناپلیوس‌ها، در مقایسه با تیمار شاهد و تیمارهای تغذیه‌شده با کاسنی بسیار چشمگیر بود، اختلاف تیمارهای تغذیه‌شده با ناپلیوس استرس دیده با تیمارهای تغذیه‌شده با ناپلیوس بدون استرس براساس آنالیزهای آماری تفاوت معنی‌داری نشان نداد، اما با مقایسه میزان افزایش وزن و طول در این تیمارها می‌توان به این نکته پی برد که تغذیه با ناپلیوس استرس‌دیده رشد ماهی را افزایش می‌دهد. این اختلاف در ویژگی‌های ظاهر ماهیان (از نظر باله و رنگ و زیبایی) و حتی فعالیت روزانه ماهیان این تیمار به‌شدت چشمگیر بود. با این‌که در این مقاله موضوع پروتئین‌های شوک حرارتی به‌علت حجم زیاد اطاعات مورد بحث قرار نگرفت ولی مطالعات زیادی درخصوص فعال‌سازی مسیرهای سیگنالی داخل سلولی جهت بیان HSP انجام گرفته است. تمام استرس‌های شناخته شده اگر به‌اندازه کافی شدید باشند منجر به بیان HSP می‌شوند. تحقیقات سال‌های اخیر نشان داده است که می‌توان به‌صورت مصنوعی با تحریک پروتئین‌های شوک حرارتی باعث تقویت سیستم دفاعی موجود در برابر استرس‌های محیطی شد (Saravanakumar و Soundarapandian، 2009). پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) به‌عنوان یک شاخص برای ارزیابی میزان استرس در جانداران در نظر گرفته می‌شوند (Iwama و همکاران، 1998؛ Sanders، 1995). این پروتئین‌های تنظیم‌کننده درون‌سلولی هم در سلول‌های پروکاریوت و هم در سلول‌های یوکاریوت شناسایی شده‌اند (Lindquist و Craig، 1998). در شرایطی که سلول تحت تأثیر استرس قرار می‌گیرد این پروتئین‌ها ترشح

می‌شوند و باعث مقاومت سلول در برابر استرس می‌شود (Baruah و همکاران، 2013). با توجه به نقش پروتئین‌های شوک حرارتی در افزایش مقاومت جاندار نسبت به استرس‌های محیطی و با توجه به این‌که افزایش سطح این پروتئین‌ها در بدن عموماً نیازمند ایجاد استرس و شوک خارجی بوده و اغلب مواقع نمی‌تواند به‌موقع موجب بروز مقاومت داخلی شود. لذا در تعدادی از بررسی‌های مقدماتی انجام شده بر روی موجودات مختلف نشان داده شده که تغذیه با این دسته از پروتئین‌ها نیز می‌تواند باعث تقویت سیستم ایمنی موجود زنده شود. در این تحقیقات مشخص شده است که این دسته از پروتئین‌ها دارای ساختمان تقریباً یکسانی در اغلب موجودات می‌باشند و در صورت ورود این پروتئین‌ها به هر نحو، رشد و بقا در شرایط استرس‌زای محیطی تقویت خواهد شد (Soundarapandian و Saravanakumar، 2009). در این‌خصوص به اثبات رسیده هست که حتی اگر باکتری *Escherichia coli* (Baruah و همکاران، 2010) و یا مخمر تک‌سلولی حاوی HSP فعال، جهت تغذیه لارو آرتمیا مورد استفاده قرار گیرد، باعث افزایش مقاومت آن در برابر استرس می‌شود (جعفری و همکاران، 1393). با استناد به نتایج این تحقیق و مطالعات پیشین اشاره شده توسط همین گروه تحقیقاتی به‌منظر می‌رسد استفاده از لارو آرتمیای استرس دیده می‌تواند نقش اساسی در ایجاد مقاومت و رشد بهتر در لارو دیگر آبزیان داشته باشد. اگرچه در این تحقیق حیوان مدل یک ماهی زینتی انتخاب شده است، اما با تعمیم دادن نتایج آن به پرورش ماهیان خوراکی، با توجه به این‌که با افزایش جمعیت جهان و نیاز به غذا و منابع پروتئینی نیز بیش‌تر می‌شود و ماهیان و آبزیان سهم زیادی از غذای جهان را شامل می‌شوند، می‌توان دریافت که با تغییر جیره



8. **Bouhnik, Y.; Pochart, P.; Marteau, P.; Arlet, G.; Goderei, I. and Rambaud, J.C., 1992.** Fecal recovery in humans of viable *Bifidobacterium* sp. ingested in fermented milk. *Gastroenterology*. Vol. 102, pp: 875-878.
9. **Baruah, K.; Norouzitalab, P.; Shihao, L.; Sorgeloos, P. and Bossier, P., 2013.** Feeding truncated heat shock protein 70s protect *Artemia franciscana* against virulent *Vibrio campbellii* challenge. *Fish & shellfish immunology*, Vol. 34, No. 1, pp. 183-191.
10. **Baruah, K.; Ranjan, J.; Sorgeloos, P. and Bossier, P., 2010.** Efficacy of heterologous and homologous heat shock protein 70s as protective agents to *Artemia franciscana* challenged with *Vibrio campbellii*. *Fish and shellfish immunology*. Vol. 29, No. 5, pp: 733-739.
11. **Crittenden, R.G. and Tannock, G.W., 1999.** Probiotics: A critical review. Horizon Scientific. Wymondhan. UK. pp: 141-156.
12. **FAO. 2014.** Aquaculture Department. 2014. The state of world fisheries and aquaculture 2014. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 243 P.
13. **Firouzbakhsh, F.; Noori, F.; Khalesi, M.K. and Jani Khalili, K., 2011.** Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. *Fish physiology and biochemistry*. Vol. 37, No. 4, pp: 833-842.
14. **Franck, A.M.E., 2000.** Inulin and oligofructose. LFRA Ingredient Handbook: Prebiotics and Probiotics. Leatherhead Publishing, Surrey. pp: 1-18.
15. **Gatesoupe, F.J., 1999.** The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*. Vol. 180, No. 1-2, pp: 147-165.
16. **Giri, S.S.; Sahoo, S.K.; Sahu, B.B.; Sahu, A.K.; Mohanty, S.N.; Mukhopadhyay, P.K. and Ayyappan, S., 2002.** Larval survival and growth in *Wallago attu* (Bloch and Schneider): effects of light, photoperiod and feeding regimes. *Aquaculture*. Vol. 213, No.1, pp: 151-161.
17. **Gomez Gil, B.; Thompson, F.L.; Thompson, C.C. and Swings, J., 2003.** *Vibrio pacinii* sp. nov., from cultured aquatic organisms. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. Vol. 53, No. 5, pp: 1569-1573.
18. **Grant, A.A.; Baker, D.; Higgs, D.A.; Brauner, C.J.; Richards, J.G.; Balfry, S.K. and Schulte, P.M., 2008.** Effects of dietary canola oil level on growth, fatty acid composition and osmoregulatory ability of juvenile fall chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture*. Vol. 277, No. 3, pp: 303-312.
19. **Hajje, G.; Hattour, A.; Hajje, A.; Allaya, H.; Jarboui, A. and Bouain, A., 2011.** Biometry, length-length and length-weight relationships of little tuna *Euthynnus alletteratus* in the Tunisian waters. *Journal of fisheries and Aquatic Science*. Vol. 6, No. 3, pp: 256.
20. **Hoseinifar, S.H.; Roosta, Z.; Hajimoradloo, A. and Vakili, F., 2015.** The effects of *Lactobacillus acidophilus* as feed supplement on skin mucosal immune parameters, intestinal microbiota, stress resistance and growth performance of black swordtail (*Xiphophorus helleri*). *Fish & shellfish immunology*. Vol. 42, No. 2, pp: 533-538.
21. **Huang, S.S.Y.; Fu, C.H.L.; Higgs, D.A.; Balfry, S.K.; Schulte, P.M. and Brauner, C.J., 2008.** Effects of dietary canola oil level on growth performance, fatty acid composition and ionoregulatory development of spring chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *Aquaculture*. Vol. 274, No. 1, pp: 109-117.
22. **Hung, S.S.; Lutes, P.B.; Conte, F.S. and Storebakken, T., 1989.** Growth and feed efficiency of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) sub-yearlings at different feeding rates. *Aquaculture*. Vol. 80, No. 1, pp: 147-153.

غذایی ماهیان در استخرهای پرورش و استفاده از ناپلیوس استرس دیده می‌توان بازدهی و سود حاصل از افزایش وزن ماهی‌ها را تا میزان زیادی افزایش داد. استفاده از آرتمیا جهت افزایش رشد ماهیان آکواریومی سال‌هاست موردتوجه می‌باشد. لیکن نتایج اخیر اثبات کرد که به‌دلیل گران بودن سیستم آرتمیا، استفاده از یک حیره ترکیبی (50% ناپلیوس استرس‌دیده+50% غذای کنسانتره) مشروط بر این‌که یک استرس کوتاه‌مدت کنترل‌شده به‌مدت 4 ساعت بر ناپلیوس‌های آرتمیا اعمال شود، می‌تواند نتایج بهتری در رشد ماهی گوپی و شاید دیگر گونه‌های ماهیان آکواریومی حاصل نماید. با توجه به نتایج ضعیف استفاده از کاسنی و احتمال عدم مقبولیت مزه این ماده توصیه می‌شود جهت افزودن اینولین به غذای ماهی‌ها از دیگر منابع آن استفاده کرد یا به‌طریقی مثل افزودن ماده‌ای با طعم دلخواه ماهی، آن را به غذای موردعلاقه ماهی تبدیل کرد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه، پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه و دانشکده منابع طبیعی دانشگاه ارومیه جهت فراهم نمودن امکانات اجرای این تحقیق تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

1. **اکرمی، ر.؛ چیت‌ساز، ح.؛ دشتیان، ص. و رازقی‌منصور، م.، 1392.** تأثیر پروبیوتیک اینولین و مانان الیگوساکارید به‌صورت مجزا و توأم با عملکرد رشد، بازماندگی، ترکیب لاشه و مقاومت به استرس شوری در بچه ماهی سفید. فصلنامه علوم و فنون شیلات. دوره 2، شماره 3، صفحه 17.
2. **جعفری، گ.؛ مناف‌فر، ر. و زارع، ص.، 1393.** تأثیر تغذیه با مخمر تحریک‌شده حاوی پروتئین‌های شوک حرارتی HSP بر میزان رشد، بقاء و مقاومت در برابر استرس‌های محیطی در دو گونه *Artemia urmiana* و *Artemia franciscana*. فصلنامه محیط زیست جانوری. سال 6، شماره 4، صفحات 93 تا 101.
3. **خلیل‌پور، ه.، 1395.** تأثیر تغذیه با ناپلیوس آرتمیا حاوی پروتئین‌های شوک حرارتی بر ویژگی‌های رشد، بقاء و مقاومت نسبت به استرس‌های محیطی در ماهی گوپی. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد زیست فناوری دریا. دانشگاه ارومیه. 135 صفحه.
4. **Akbary, P.; Hosseini, S.A.; Imanpoor, M.; Sudagar, M. and Makhdomi, N.M., 2007.** Comparison between live food and artificial diet on survival rate, growth and body chemical composition of *Oncorhynchus mykiss* larvae. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. Vol. 9, No. 1, pp: 19-32.
5. **Akrami, R.; Ghelichi, A. and Zarei, E., 2012.** Effect of Dietary of supplementation prebiotic inulin on growth, survival, lactic acid bacteria loading and body composition of carp juvenile (*Cyprinus carpio*). *Journal of Fisheries, Islamic Azad University Azadshahr Branch*. Vol. 5, No. 4, pp: 87-94.
6. **Bagheri, T.; Hedayati, S.A.; Yavari, V.; Alizade, M. and Farzanfar, A., 2008.** Growth, survival and gut microbial load of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry given diet supplemented with probiotic during the two months of first feeding. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol. 8, No. 1, pp: 43-48.
7. **Bengtson, D.A.; Leger, P. and Sorgeloos, P., 1991.** Use of Artemia as a food source for aquaculture. In: R.A. Broune; P. Sorgeloos and C.N.A. Trotman (eds.), *Artemia biology*. CRC Press, Boca Raton, FL., USA. pp: 255-280.



40. Ringø, E. and Birkbeck, T.H., 1999. Intestinal microflora of fish larvae and fry. *Aquaculture research*. Vol. 30, No. 2, pp: 73-93.
41. Ringø, E.; Sperstad, S.; Myklebust, R.; Refstie, S. and Krogdahl, Å., 2006. Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): the effect of fish meal, standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal. *Aquaculture*. Vol. 261, No. 3, pp: 829-841.
42. Roberfroid, M., 1993. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*. Vol. 33, No. 2, pp: 103-148.
43. Roberfroid, M.B., 2005. Inulin type Fructans: Functional Food Ingredients. New York: CRC Press.
44. Roozbehfar, R.; Jamali, H. and Hematian, R., 2012. The potential of Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) in exploitation of *Artemia urmiana* in comparison with *Daphnia* sp. and its mixture. *World Appl. Sci. J.* Vol. 20, No. 6, pp: 776-780.
45. Roozbehfar, R.; Jamali, H.; Jafari, M. and Hematian, R., 2013. A Comparative Study on the Growth Rate of Persian Sturgeon, *Acipenser persicus*, Larvae Fed with *Artemia urmiana* and *Daphnia* sp. *Global Veterinaria*. Vol. 10, No. 2, pp: 116-120.
46. Rottmann, R.W.; Francis Floyd, R.; Reed, P.A. and Durborow, R., 1992. Submitting a sample for fish kill investigation. SRAC Publication. No. 472, pp: 2.
47. Sanders, B.M.; Nguyen, J.; Martin, L.S.; Howe, S.R. and Coventry, S., 1995. Induction and subcellular localization of two major stress proteins in response to copper in the fathead minnow *Pimephales promelas*. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 112, No. 3, pp: 335-343.
48. Sorgeloos, P.; Dhert, P. and Candreva, P., 2001. Use of the brine shrimp, *Artemia* spp., in marine fish larviculture. *Aquaculture*. Vol. 200, No. 1, pp: 147-159.
49. Soundarapandian, P. and Saravanakumar, G., 2009. Effect of Different Salinities on the Survival and Growth of *Artemia* Spp. *Current Research Journal of Biological Sciences*. Vol. 1, No. 2, pp: 20-22.
50. Verschuere, L.; Rombaut, G.; Sorgeloos, P. and Verstraete, W., 2000. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. *Microbial Molecular Biology Reviews*. Vol. 64, No. 4, pp: 655-671.
51. Voragen, A.G., 1998. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. *Trends in Food Science and Technology*. Vol. 9, No. 8, pp: 328-335.
52. Wang, X.; Kim, K.W. and Bai, S.C., 2003. Comparison of L-ascorbyl-2-monophosphate-Ca with L-ascorbyl-2-monophosphate-Na/Ca on growth and tissue ascorbic acid concentrations in Korean rockfish (*Sebastes schlegelii*). *Aquaculture*. Vol. 225, No. 1, pp: 387-395.
53. Yousefian, M. and Sheikholeslami Amiri, M., 2009. A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 8, No. 25, pp: 7313-7318.
23. Ibrahim, M.D.; Fathi, M.; Mesalhy, S. and El-Aty, A.A., 2010. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*. Vol. 29, No. 2, pp: 241-246.
24. Irianto, A. and Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*. Vol. 25, No. 11, pp: 633-642.
25. Iwama, G.K.; Thomas, P.T.; Forsyth, R.B. and Vijayan, M.M., 1998. Heat shock protein expression in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. Vol. 8, No. 1, pp: 35-56.
26. Kanazawa, A.; Teshima, S.I. and Ono, K., 1979. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. Vol. 63, No. 3, pp: 295-298.
27. Kedia, G.; Wang, R.; Patel, H. and Pandiella, S.S., 2007. Use of mixed cultures for the fermentation of cereal-based substrates with potential probiotic properties. *Process Biochemistry*, Vol. 42, No. 1, pp: 65-70.
28. Kim, J.; Massee, K.C. and Hardy, R.W., 1996. Adult *Artemia* as food for first feeding coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*. Vol. 144, No. 1, pp: 217-226.
29. Koueta, N.; Boucaud-Camou, E. and Noel, B., 2002. Effect of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture*. Vol. 203, No. 3, pp: 293-310.
30. Lavens, P. and Sorgeloos, P., 2000. The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture*. Vol. 181, No. 3, pp: 397-403.
31. Léger, P.; Bengtson, D.A.; Simpson, K.L. and Sorgeloos, P., 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. Vol. 24, pp: 521-623.
32. Lindquist, S. and Craig, E.A., 1988. The heat-shock proteins. *Annual review of genetics*. Vol. 22, No.1, pp: 631-677.
33. Magurran, A.E., 2005. *Evolutionary ecology: The Trinidadian guppy*. Oxford University Press, Oxford, U.K. 24 P.
34. Mahious, A.S. and Ollevier, F., 2005. Probiotics and prebiotics in aquaculture: review. In: 1st Regional workshop on techniques for enrichment of live food for use in larviculture AAARC, Urmia, Iran. pp: 17-26.
35. Manaffar, R., 2012. Genetic diversity of *Artemia* populations in Lake Urmia, Iran. PhD thesis, Ghent University, Belgium. 160 P.
36. Millamena, O.M., 1996. Training course on fish nutrition. Part: Lipids and Fatty Acids. pp: 1-19.
37. Mira, S.M., 2011. Effect of dietary inulin as prebiotic on growth, survival and intestinal bacterial density of kutum (*Rutilus frisii kutum*) fry. Thesis for M.Sc. of Islamic Azad University, Qaemshahr Branch. P: 77.
38. Olsen, R.E.; Myklebust, R.; Kryvi, H.; Mayhew, T.M. and Ringø, E., 2001. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquaculture Research*. Vol. 32, No. 11, pp: 931-934.
39. Pochart, P.; Marteau, P.; Bouhnik, Y.; Goderel, I.; Bourlioux, P. and Rambaud, J.C., 1992. Survival of bifidobacteria ingested via fermented milk during their passage through the human small intestine: an in vivo study using intestinal perfusion. *The American journal of clinical nutrition*. Vol. 55, No. 1, pp: 78-80.

